



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 332 905**

(51) Int. Cl.:
A61K 38/48 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **04019046 .4**
(96) Fecha de presentación : **16.12.1994**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1502600**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **02.02.2005**

(54) Título: **Uso del componente neurotóxico de la toxina botulínica para el tratamiento de trastornos de músculos lisos.**

(30) Prioridad: **28.12.1993 US 173996**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
15.02.2010

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
15.02.2010

(73) Titular/es: **ALLERGAN, Inc.**
2525 Dupont Drive
Irvine, California 92612, US

(72) Inventor/es: **Aoki, Roger K.;**
Grayston, Michael W.;
Carlson, Steven R. y
Leon, Judith M.

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 332 905 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Uso del componente neurotóxico de la toxina botulínica para el tratamiento de trastornos de músculos lisos.

5 **Campo de la invención**

La presente invención proporciona nuevos usos del componente neurotóxico de la toxina botulínica para el tratamiento de varios trastornos y afecciones. Fundamentalmente, la presente invención proporciona procedimientos útiles en el alivio del dolor relacionado con la actividad o contractura de músculos lisos.

10 **Antecedentes de la invención**

Hasta la fecha, las toxinas botulínicas, en particular la toxina botulínica tipo A, han sido utilizadas en el tratamiento de varios trastornos neuromusculares y afecciones que implican espasmos musculares; por ejemplo, estrabismo, blefaroespasmos, tortícolis espasmódica (distonía cervical), distonía oromandibular y distonía espasmódica (distonía laríngea). La toxina se une rápida y fuertemente a las terminales presinápticas colinérgicas del nervio e inhibe la exocitosis de acetilcolina mediante la disminución de la frecuencia de liberación de acetilcolina. Esto da como resultado una parálisis local y por lo tanto una relajación del músculo afectado por el espasmo.

Como ejemplo del tratamiento de trastornos neuromusculares, véase la patente de Estados Unidos N° 5.053.005 de Borodic, que sugiere el tratamiento de la curvatura de la columna vertebral juvenil, es decir, escoliosis, con un inhibidor de la liberación de acetilcolina, preferentemente la toxina botulínica A.

Para el tratamiento del estrabismo con toxina botulínica tipo A, véase Elston, J S, *et al. British Journal of Ophthalmology*, 1985, 69, 718-724 y 891-896. Para el tratamiento del blefaroespasmo con toxina botulínica tipo A, véase Adenis, J. P., *et al., J Fr Ophthalmol*, 1990, 13 (5) en las páginas 259-264. Para el tratamiento del estrabismo, véase Elston, J S, Eye, 1990, 4(4): Vil. Para el tratamiento de la distonía tortícolis espasmódica y oromandibular, véase Jankovic, *et al., Neurology*, 1987, 37, 616-623.

La disfonía espasmódica ha sido tratada con toxina botulínica tipo A, véase Blitzer *et al., Ann. Otol. Rhino. Laryngol.*, 1985, 94, 591-594. La distonía lingual fue tratada con toxina botulínica tipo A de acuerdo con Brin *et al., Adv. Neurol.* (1987) 50, 599-608. Finalmente, Cohen *et al., Neurology* (1987) 37 (Suppl. 1), 123-4, describen el tratamiento del calambre del escritor con la toxina botulínica tipo A.

La expresión toxina botulínica es una expresión genérica que abarca las familias de las toxinas producida por la bacteria anaeróbica *Clostridium botulinum* y, hasta la fecha, han sido identificadas 7 neurotoxinas inmunológicamente distintas. Estas han recibido las denominaciones A, B, C, D, E, F y G. Para más información referente a las propiedades de las distintas toxinas botulínicas, se hace referencia al artículo de Jankovic y Brin, *The New England Journal of Medicine*, N° 17, 1990, páginas 1186-1194, y al estudio de revisión de Charles L. Hatheway en el capítulo 1 del libro titulado *Botulinum Neurotoxin and Tetanus Toxin*, L. L. Simpson, Ed., publicado por Academic Press Inc. de San Diego, California 1989. cuyas descripciones se incorporan en la presente memoria descriptiva mediante referencia.

El componente neurotóxico de la toxina botulínica tiene un peso molecular de aproximadamente 150 kilodaltons y se piensa que comprende una corta cadena polipeptídica de aproximadamente 50 kD que se considera responsable de las propiedades tóxicas de la toxina, por ejemplo, interferir en la exocitosis de la acetilcolina, disminuir la frecuencia de liberación de acetilcolina, y en una cadena polipeptídica más larga de aproximadamente 100 kD que se cree es necesaria para permitir la unión de la toxina a la membrana presináptica.

Las cadenas “corta” y “larga” están unidas entre sí por medio de puentes sencillos de disulfuro. (Cabe destacar que ciertos serotipos de toxina botulínica, por ejemplo, del tipo E, pueden existir en forma de proteína de una sola cadena y sin cortes, en lugar de una doble cadena. La forma de una sola cadena es menos activa, pero puede convertirse en la correspondiente cadena doble mediante cortes con una proteasa, por ejemplo, tripsina. Ambas, la cadena sencilla y la doble, son útiles en el procedimiento de la presente invención).

En general, se conocen cuatro grupos fisiológicos de *C. Botulinum* (I, II, III, IV). Los organismos capaces de producir una toxina serológicamente distinta pueden provenir de más de un grupo fisiológico. Por ejemplo, las toxinas de tipo B y F pueden ser producidas por cepas del Grupo I o II. Además, han sido identificadas otras cadenas de especies de *clostridium* (*C. Baratii*, tipo F; *C. Butyricum*, tipo E; *C. Novyi*, tipo C₁ o D) que pueden producir neurotoxinas botulínicas.

Los conjugados con inmunotoxina de ricina y anticuerpos, que se caracterizan por tener aumentada su citotoxicidad mediante la mejora de la afinidad a la superficie celular, están descritos en la memoria de Patente Europea O129434. Los inventores advierten que la toxina botulínica puede ser utilizada en lugar de la ricina.

La toxina botulínica se obtiene comercialmente mediante la creación y cultivo de cultivos de *C. Botulinum* en un fermentador y recogiendo y purificando más tarde la mezcla fermentada de acuerdo con técnicas conocidas.

La toxina botulínica tipo A, el tipo de toxina generalmente utilizado para tratar afecciones neuromusculares, está en la actualidad comercialmente disponible en distintas compañías; por ejemplo, en Porton Products Ltd. Reino Unido, bajo el nombre comercial "DYSPORT", y en Allergan, Inc., Irvine, California, bajo el nombre comercial BOTOX®.

- 5 Es un objeto de la invención proporcionar nuevos usos del componente neurotóxico para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos y afecciones neuromusculares. Es otro objeto de la presente invención aliviar el dolor con varios tipos de toxina botulínica.

Resumen de la invención

10

La presente invención proporciona el uso del componente neurotóxico de la toxina botulínica para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos musculares lisos incluyendo, pero no limitado a, espasmos en el esfínter de la arteriola cardiovascular, sistema gastrointestinal, urinario, vesícula biliar y recto, cuyo tratamiento comprende la administración al paciente que padece dicho trastorno o afección una cantidad terapéuticamente efectiva del componente neurotóxico de la toxina botulínica seleccionado del grupo que está constituido por toxina botulínica tipos B, C, D, E, F y G.

15

Cada serotipo de toxina botulínica ha sido identificado como proteínas inmunológicamente diferentes a través del uso de anticuerpos específicos. Por ejemplo, si el anticuerpo (antitoxina) reconoce, esto es, neutraliza la actividad biológica de, por ejemplo, el tipo A, no reconocerá los tipos B, C, D, E, F o G.

20

Aunque todas las toxinas botulínicas parecen ser zinc-endopeptidasas, el mecanismo de acción de los distintos serotipos, por ejemplo, A y E dentro de la neurona, parecen ser diferentes al del tipo B. Además, el "receptor" de la superficie neuronal para la toxina, parece ser diferente en cada serotipo.

25

En el área de uso de las toxinas botulínicas de acuerdo con la presente invención, con respecto a los sistemas orgánicos que implican la liberación de neurotransmisor, se espera introducir las toxinas A, B, C, D, E, F, y G directamente mediante inyecciones locales.

30 Descripción detallada

Las toxinas botulínicas usadas de acuerdo con la presente invención son las toxinas botulínicas tipo A, B, C, D, E, F, y G.

35 Los grupos fisiológicos de los tipos de *Clostridium botulinum* aparecen se indican en la Tabla I.

TABLA I

Grupos fisiológicos de Clostridium botulinum

40

45

50

55

60

65

Grupo	Serotipo de la toxina	Bioquímica	Digestión láctea	Fermentación en glucosa	Lipasa	Fagos y plásmidos	Clostridium relacionados fenotípicamente (no toxigénicas)
I	A, B, F	proteolítica sacarolítica	+	+	+	+	C. sporogenes
II	B, E, F	no proteolítica sacarolítica psicotrónica	-	+	+	+	
III	C, D	no proteolítica sacarolítica	+	+	+	+	C. novyi
IV	G	proteolítica no sacarolítica	+	-	-	-	C. subterminale

Estos tipos de toxinas pueden ser producidos por selección del grupo fisiológico apropiado de organismos *Clostridium botulinum*. Los organismos designados como Grupo I, se denominan normalmente proteolíticos y producen toxinas botulínicas de los tipos A, B, y F. Los organismos designados como Grupo II son sacarolíticos y producen toxinas botulínicas de los tipos B, E y F. Los organismos designados como Grupo III producen sólo toxinas botulínicas de los tipos C y D, y se distinguen de los organismos de los Grupos I y II por la producción de cantidades significativas de ácido propiónico. Los organismos del Grupo IV sólo producen neurotoxina tipo G. La producción de uno cualquiera y de todos los tipos de toxina botulínica A, B, C, D, E, F y G está descrita en el Capítulo I de “*Botulinum Neurotoxin and Tetanus Toxin*”, citado anteriormente, y/o las referencias allí citadas. Los tipos de toxina botulínica B, C, D, E, F y G también se pueden obtener de varias especies de clostridia.

Actualmente, catorce especies de clostridia son consideradas patógenas. La mayoría de las cepas patógenas producen toxinas que son responsables de varios signos y síntomas patológicos. Han sido aislados organismos que producen toxinas botulínicas a partir de epidemias de botulismo en humanos (tipos A, B, E y F) y en animales (tipos C y D). Sus identidades fueron descritas a través del uso de antitoxinas (anticuerpos) específicas, desarrolladas contra unas primeras toxinas. La toxina tipo G se encontró en el suelo y tiene baja toxigenicidad. Sin embargo, ha sido aislada en muestras de autopsia, pero hasta ahora no ha habido evidencia adecuada de que el botulismo tipo G ocurra en humanos.

Preferentemente, la toxina debe administrarse por medio de inyección intramuscular, directamente en una zona local tal como el músculo espástico, preferentemente en la región de unión neuromuscular, aunque puedan ser empleadas cuando se considere apropiado, formas alternativas de administración (por ejemplo, inyección subcutánea), que pueden transportar la toxina directamente a la región afectada. La toxina puede ser presentada como una solución o dispersión acuosa estéril apirética, y como polvo estéril para reconstitución en una solución o dispersión estéril.

Si se desea, pueden ser añadidos agentes ajustadores de la tonicidad tal como cloruro sódico, glicerol y distintos azúcares. Pueden también ser incluidos estabilizadores tales como albúmina sérica humana. La formulación se puede conservar por medio de un conservante adecuado, farmacéuticamente aceptable, tal como un parabeno, aunque es preferible que no tenga conservantes.

Es preferible que la toxina se formule en una única dosis; por ejemplo, se puede proporcionar en forma de una solución estéril en un vial o como un vial o sobres que contengan polvo liofilizado para reconstituir con un vehículo adecuado tal como solución salina para inyección.

En una realización, la toxina botulínica se formula en una solución que contiene albúmina sérica humana pas-teurizada y solución salina, que estabiliza la toxina y minimiza las pérdidas mediante adsorciones no específicas. La solución se filtra en condiciones estériles (filtro de 0,2 micrómetros), se carga en viales individuales y se seca al vacío, para dar un polvo liofilizado estéril. Para su uso, el polvo puede ser reconstituido mediante la adición de solución salina normal estéril sin conservantes (cloruro sódico al 0,9% para inyección).

La dosis de toxina administrada al paciente dependerá de la gravedad de la afección; por ejemplo, del número de grupos de músculos que requieren tratamiento, de la edad y talla del paciente y de la potencia de la toxina. La potencia de la toxina se expresa como múltiplo del valor DL_{50} para el ratón, definiéndose una unidad (U) de la toxina como la cantidad de toxina equivalente que provoca la muerte del 50% de un grupo de 18 a 20 ratones Swiss-Webster hembras, que pesan aproximadamente 20 gramos cada uno.

Las dosis utilizadas en aplicaciones terapéuticas humanas son aproximadamente proporcionales a la masa del músculo que se inyecta. Típicamente, la dosis administrada al paciente puede ser desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 1.000 unidades; por ejemplo, hasta aproximadamente 500 unidades, y preferiblemente en un intervalo desde aproximadamente 80 hasta aproximadamente 460 unidades por paciente y por tratamiento, aunque dosis menores y mayores pueden ser administradas en circunstancias apropiadas, tales como hasta aproximadamente 50 unidades para el alivio del dolor y el control de las secreciones colinérgicas.

Conforme los médicos se familiaricen más con el uso de este producto, la dosis puede cambiarse. En la toxina botulínica tipo A disponible de Porton, DYSPORT, 1 nanogramo (ng) contiene 40 unidades. 1 ng de toxina botulínica tipo A, disponible de Allergan, Inc., es decir, BOTOX®, contiene 4 unidades. La potencia de la toxina botulínica y su larga duración, hacen que las dosis tiendan a ser administradas de forma poco frecuente. Finalmente, sin embargo, tanto la cantidad de toxina administrada como la frecuencia de su administración será responsabilidad del médico encargado del tratamiento y estará de acuerdo con las cuestiones de seguridad y los efectos producidos por la toxina.

En algunas circunstancias, particularmente en el alivio del dolor asociado con lesiones deportivas, tales como, por ejemplo, afecciones derivadas de lesiones deportivas (charleyhorse), se prefiere el tipo F de botulinum que tiene una corta duración de acción.

La invención será ilustrada ahora con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

En cada ejemplo, las zonas apropiadas de cada paciente son inyectadas con una solución estéril que contiene la toxina botulínica de presencia confirmada. Las dosis totales del paciente varían desde aproximadamente 0,01 unidades hasta 460 unidades. Antes de inyectar en cualquier grupo de músculos, se considera cuidadosamente la anatomía del

ES 2 332 905 T3

grupo de músculos, con el propósito de inyectar, si se conoce, en la zona con la mayor concentración de uniones neuromusculares. Antes de inyectar en el músculo, la posición de la aguja en el músculo se confirma poniendo el músculo en toda su gama de movimientos, y observando el movimiento resultante del extremo de la aguja. La anestesia general, la anestesia local y la sedación se usan de acuerdo con la edad del paciente, el número de puntos que serán inyectados, y las necesidades particulares de cada paciente. Puede ser necesaria más de una inyección y/o puntos de inyección para alcanzar el resultado deseado. Además, algunas inyecciones, dependiendo del músculo inyectado, pueden requerir el uso de agujas finas, huecas y revestidas con teflón, guiadas por electromiografía.

Tras la inyección, cabe destacar que no hay efectos secundarios sistémicos ni locales y en ninguno de los pacientes se ha visto que desarrollase hipotonicidad local extensiva. La mayoría de los pacientes muestra una mejora en la función tanto subjetivamente y, cuando se mide, también objetivamente.

Ejemplo

Uso de la toxina botulínica tipo A-G en el tratamiento de los espasmos musculares en trastornos del músculo liso tales como esfínteres de la arteriola cardiovascular, sistema gastrointestinal, vesícula biliar o urinaria, rectal, etc

Un hombre, edad 30-40, con una válvula pilórica estrecha que evita que se vacíe el estómago, se trata con la administración de 1-50 unidades de toxina botulínica. La administración se realiza a la válvula pilórica (que controla la liberación del contenido del estómago en el intestino) dividida en 2 a 4 cuadrantes, las inyecciones se realizan con cualquier dispositivo endoscópico o durante cirugía. En aproximadamente 1-7 días, se produce el vaciado normal del estómago, eliminación o reducción drástica en la regurgitación.

REIVINDICACIONES

5 1. El uso del componente neurotóxico de la toxina botulínica para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos del músculo liso.

2. El uso según la reivindicación 1, en el que el componente neurotóxico tiene un peso molecular de aproximadamente 150 kilodaltons.

10 3. El uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que el trastorno del músculo liso es un espasmo en el esfínter de la arteriola cardiovascular, sistema gastrointestinal, urinario, vesícula biliar y recto.

4. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el componente de la neurotoxina es el componente de la neurotoxina botulínica tipo A, B, C, D, E, F o G.

15 5. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el medicamento es para administración local.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65